



PatentWeb
Home



Edit
Search



Return to
Patent List



Help

☐ Include in patent order

MicroPatent® Worldwide PatSearch: Record 1 of 1

[no drawing available]

Family Lookup

JP04173736

EMULSION

NIPPON SHINYAKU CO LTD

Inventor(s): ;SEKI JUNZO ;YAMANE SHUJI ;USHIMARU KOICHI

Application No. 02301638 , **Filed** 19901106 , **Published** 19920622

Abstract:

PURPOSE: To provide an emulsion containing a polyene antifungal antibiotic and a phospholipid in a specific ratio, having an average particle diameter in a specified range, reduced in the hemolytic toxicity and nephrotoxicity and enhanced in the migration of the medicinal ingredient to infective sites.

CONSTITUTION: An emulsion contains 0.005-5%(W/V) of a polyene antifungal antibiotic (e.g. amphotericin B), 0.5-25%(W/V) of a phospholipid, preferably yolk lecithin, and a proper amount of water as essential ingredients, has an average emulsion particle diameter of $\leq 100\text{nm}$, and does not contain particles having diameters of $\geq 1\mu\text{m}$. Compared with conventional liposome preparations and fat emulsions, the emulsion has extremely fine emulsion particle diameters and excellent stability, is reduced 10 the non-specific intake of the medicinal ingredient by endothelial cell tissues, etc., and further has an activity to maintain the concentration of the medicinal ingredient in blood.

COPYRIGHT: (C)1992, JPO&Japio

Int'l Class: A61K03171 A61K009107 A61K00914 A61K04724

MicroPatent Reference Number: 001298473

COPYRIGHT: (C) JPO



PatentWeb
Home



Edit
Search



Return to
Patent List



Help

For further information, please contact:
[Technical Support](#) | [Billing](#) | [Sales](#) | [General Information](#)

⑫ 公開特許公報(A) 平4-173736

⑤ Int. Cl.⁵A 61 K 31/71
9/107
9/14
47/24

識別記号

ADZ

F
M
H
Z

庁内整理番号

9164-4C
7624-4C
7624-4C
7624-4C
7624-4C

⑬ 公開 平成4年(1992)6月22日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全9頁)

⑭ 発明の名称 乳化剤

⑰ 特 願 平2-301638

⑱ 出 願 平2(1990)11月6日

⑲ 発 明 者 関 純 造 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 日本新薬株式会社内

⑲ 発 明 者 山 根 周二 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 日本新薬株式会社内

⑲ 発 明 者 牛 丸 紘 一 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 日本新薬株式会社内

⑳ 出 願 人 日本新薬株式会社 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地

㉑ 代 理 人 弁理士 片岡 宏 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

乳 化 剤

2. 特許請求の範囲

(1) 医薬組成物として、ポリエン抗真菌抗生物質0.005～5% (w/v)、リン脂質0.5～25% (w/v) 及び適量の水を必須構成成分とし、乳剤粒子の平均粒子径が5 nm以上 100 nm未満の範囲であることを特徴とするポリエン抗真菌抗生物質を含有した乳化剤、及びその凍結乾燥製剤。

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、ポリエン抗真菌抗生物質を含有したリン脂質からなる乳化剤及びその凍結乾燥製剤に関する。詳しくは、本発明は、乳剤粒子の平均粒子径が5 nm以上 100 nm未満の範囲であることを特徴とするポリエン抗真菌抗生物質を含有したリン脂質からなる改良乳化剤及びその凍結乾燥製剤に関する。

〔従来の技術〕

アムホテリシンBに代表されるポリエン抗真菌抗生物質は、開発されてから約30年を経過した今日においても、全身投与でき、確実な効果が期待される重要な抗真菌剤である。しかし、その臨床使用は、溶血毒性や腎毒性といった重篤な副作用により著しく制限され、十分な薬物療法を行うことができない欠点を有していた。また、製剤学的にみても現在市販のアムホテリシンB注射剤は、デオキシコール酸ナトリウムという刺激性・溶血性を有する界面活性剤を用いたものであり、改善が望まれていた。

これらの副作用の低減を目的として、リン脂質からなるリボソーム製剤、又は大豆油を少量のリン脂質で乳化してなる脂肪乳剤製剤としてアムホテリシンBを投与することが行われてきた (Szoka, F. C. Jr, et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 31, 421-429, 1987. [以下「文献1」]、Kirsh, R, et al. Journal of Infectious Diseases, 158, 1065-1070, 1988. [以下「文献2」]、特開昭63-66123号公報 [以下「文献3」])

〕、他)。

しかしながら、これら各種リボソーム製剤、脂質複合体製剤及び脂肪乳剤製剤は、アムホテリシンBの有する溶血毒性を軽減し、急性毒性の軽減には成功しているものの、臨床で最も大きな問題である腎毒性の軽減についてはほとんど効果がみられないという大きな欠点を有していた。また、これら各種リボソーム製剤、脂質複合体製剤及び脂肪乳剤製剤は、感染部位に集合しているマクロファージ等に対して被貪食性を有することを特徴とするが、全身レベルで評価した際、投与した薬物の大半が肝臓や脾臓に代表される細網内皮系細胞に貪食を受け移行し、感染部位への真の薬物移行性が必ずしも高くないという欠点を有していた。

一方、製剤の製造及び安定性に係る観点からも、リボソーム製剤は工業上その大量生産方法に課題を有し、凝集等による粒子形の増大等という点で保存安定性にも大きな欠点を有していた。また、従来より栄養液として臨床で用いられてきた脂肪乳剤が種々の薬物の注射用剤形として応用され、

た投与剤形を提供することを目的とした。特に、臨床の場で最も大きな真の問題であるアムホテリシンBの腎毒性を軽減し、重篤な腎障害誘発の懸念を有することなく安全に有効量を投与できる製剤を提供することが重要である。

〔課題を解決するための手段〕

本発明者らは、鋭意検討を重ねた結果、以下に示す医薬組成物によって、上記目的を達成できることを見出し、ようやく本発明を完成するに到った。

本発明の要旨は、医薬組成物として、ポリエン抗真菌抗生物質0.005～5% (w/v)、リン脂質0.5～25% (w/v)、及び適当量の水を必須組成成分とし、乳剤粒子の平均粒子径が5nm以上100nm未満の範囲であることを特徴とするポリエン抗真菌抗生物質含有した乳剤である。

本発明に係るポリエン抗真菌抗生物質含有乳剤(以下、「本発明乳剤」という)は、従来から知られているリボソーム製剤又は脂肪乳剤に対しその含口比率及び乳剤粒子の粒子径において特

その有用性が知られているが、ポリエン抗真菌抗生物質への応用は、この薬物が両親媒性であり、大豆油への溶解性が低いことなどの理由により、乳剤の製造及び安定性上に大きな欠点を有し、この課題を克服することが困難であった。

〔発明が解決しようとする課題〕

通常、投与された薬物は、その薬物分子の持つ固有の性質により生体内を移動分布する。そしてその一部が作用部位に到達し薬効を発現する。このとき薬効発現に必要な部位にのみ薬物が集中することが好ましいが、一般には身体全体に薬物は広く分布し、不要な部位にも薬物が移動する。時にこれが副作用の原因となる。従って、薬物の体内動態を改善することの重要性及び必要性が生じる。

そこで、本発明者らは、上記の事情に鑑み、ポリエン抗真菌抗生物質のもつ分子レベルの薬理作用機構(抗真菌作用)そのものに影響を与えることなく、その溶血毒性及び腎毒性を軽減することができ、加えて感染部位への薬物移行性にも優れ

徴を有している。

そして、上記特徴により、後述するような従来のリボソーム製剤及び脂肪乳剤では得ることができなかった効果が得られたということは、本発明者らが本発明によって初めて明らかにしたものである。

以下、本発明を詳述する。

本発明乳剤は、安定な乳剤としての形態を有し、1μm以上の乳剤粒子を含まない。その平均粒子径は、5nm以上100nm未満の範囲内にあることが細網内皮系による取り込み回避のため好ましい。また、特に70nm以下がより好ましい。これは、真菌感染等に起因する炎症反応により血管透過性の亢進した部位で血管内から病巣組織内に容易に漏出するからである。このようにして感染部位で選択的に、血管より多くの本発明乳剤粒子が漏出し、病巣組織内に移行する。これと同時に、この乳剤粒子に包含されている薬物も病巣内に移行する。これにより、薬物が容易にそして選択的に病巣部に移行するから、病巣部位での薬物濃度が高

まりその効果を増大させることができる。このことは、従来のものより少量の薬物投与で同等以上の薬理学的効果が得られることにつながる。

また、ポリエーテル抗菌抗生物質として、例えば、アムホテリシンBを含有する本発明乳化剤を有効量投与した場合、後述する試験例で明らかなように、腎機能に対するアムホテリシンBのもつ障害性が全く認められず、最大の課題であったアムホテリシンBの腎毒性の軽減問題が解決することが確認され、この腎毒性軽減は、投与後の薬物の腎への移行量でも完全に裏付けられた（試験例3）。即ち、本発明乳化剤を用いた場合、アムホテリシンBの腎への移行量をきわめて値かにすることができ、その結果、腎障害を軽減することができた。

このように、ポリエーテル抗菌抗生物質の投与剤形として微粒子化した安定な乳剤粒子を用いることにより、上述のような非常に有用な効果が得られるばかりでなく、細網内皮系組織等による非特異的な薬物の取り込みが抑制されることなどから、薬物の血中濃度が持続する効果をも得ることがで

きた（試験例5）。

更に、アムホテリシンB等のポリエーテル抗菌抗生物質は、比較的不安定な薬物であり、水溶液中で徐々に分解されることが知られている。しかし本発明によれば、アムホテリシンB等は、リン脂質に乳化された状態にあるため、周囲の環境から遮断された状態で存在するので、酵素的又は非酵素的な分解を抑制することができ、薬物の安定性についても改善されることが明らかとなった。

前述のように、本発明に係る乳剤粒子は、従来技術であるリボソームや大豆油と卵黄レシチンからなる高カロリー輸液を応用した従来型脂肪乳剤に比べ、乳剤粒子の粒子径がきわめて微細である点において特徴的である。従来、ポリエーテル抗菌抗生物質を含有した安定な微粒子乳化剤は困難であったが、前記のように薬物含量及び乳化剤としてリン脂質を用いて高圧微細乳化を行うことにより達成され、このことにより、本発明において初めてポリエーテル抗菌抗生物質を含有した安定な微粒子乳化剤が得られた。

本発明乳化剤における乳剤粒子の微粒子化及びポリエーテル抗菌抗生物質を安定に含有するためには、ポリエーテル抗菌抗生物質0.005～5%（w/v）、リン脂質0.5～25%（w/v）を用いることが必要である。5%を越える量のポリエーテル抗菌抗生物質や0.5%未満のリン脂質を用いた場合は、粗大粒子の混入が避けられず、薬物を含有した安定な乳剤とすることができない。安定な微細乳剤のみならず、ポリエーテル抗菌抗生物質を安定に乳剤粒子中に保持するためにも上記の組成比が望ましい。

上記の成分組成により、安定な微粒子化乳剤が得られ、このものがきわめて優れた特徴を有する乳化剤であり、新規なポリエーテル抗菌抗生物質製剤として利用できることを、本発明者らが、本発明により初めて明らかにした。

ここに、リン脂質としては、例えば、卵黄、大豆、牛、豚等由来のリン脂質、又は純若しくは半合成的に得られるリン脂質を挙げることができる。即ち、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスフ

ァチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール等を挙げることができる。例えば、卵黄ホスファチジルコリン、大豆ホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジミリスチルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルグリセロール、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、ジミリスチルホスファチジルグリセロール等を挙げることができる。それらの水添添加物も用いることができる。なかでも好ましい代表例として、卵黄卵黄レシチンを挙げることができる。また、乳剤粒子に表面荷電を賦与するためにステアリン酸、ジセチルホスフェート、ホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール等の荷電を有する脂質をも用いることができる。

本発明乳化剤及びこれを使用した製剤の製造にあたっては、従来から行われてきた種々の乳剤製造法をそのまま応用することができる。例えば、薬物を含めた全組成成分をマントン—ガウリン型

等の加圧噴射式ホモジナイザー、マイクロフルイダイザー、超音波ホモジナイザー等により十分に微細化して形成せしめる方法が一般的である。この時、一般に知られる乳化補助剤または安定化剤として生理的に受け入れられるステロール類、脂肪酸あるいはそれらの誘導体等を加えることもできる。これらの代表例としては、コレステロール、オレイン酸等を挙げることができる。

本発明乳化剤の形状や粒子径は、電子顕微鏡、光散乱方式の粒子径分析装置、メンブレンフィルターによる濾過等により容易に確認することができる。

本発明乳化剤の製剤の任意の成分として、一般に注射剤に用いられる添加剤及び補助物質などを挙げることができる。例えば、酸化防止剤、防腐剤、安定化剤、等張化剤、緩衝剤等を挙げることができる。これらの添加剤、補助物質等の要求量及び最適量は、その目的に応じて変化させることができる。

上記のようにして得られる本発明乳化剤は、必

要に応じて滅菌（例えば濾過滅菌や高圧蒸気滅菌等）し、窒素ガスと共にアンプル中に封入することができる。また、必要に応じて凍結乾燥することもできる。凍結乾燥させた本発明乳化剤は、適当な溶液の添加によって復元することが容易である。

本発明乳化剤よりなる製剤は、真菌感染症やウイルス感染症等の治療又は予防を目的としてヒト又は種々の動物の静脈内に投与するのが一般的である。この場合、乳剤粒子の粒子径等の管理を十分に行う必要がある。なぜならば、一般に $1\mu\text{m}$ 以上の粒子が混在すると、種々の毒性発現が知られているからである。また本発明乳化剤よりなる製剤は、必要に応じて従来品同様、動脈内、筋肉内、腱腔内及び皮下等に注射剤として投与することもできる。更に、本発明乳化剤は、点眼剤、点鼻剤、経口投与剤、吸入剤、膀胱注入剤、外用剤又は坐剤等としても製剤化し使用することができる。この場合においても、医薬上許容される基剤、賦形剤等の添加剤を任意の成分として用いること

ができる。

本発明乳化剤よりなる製剤の投与量は、投与ルート、剤形、症状、目的によって異なるが、乳剤として一般に、 $1\sim 1000\text{ml}$ /回である。また、アムホテリシンBとしての投与量は、成人に対して一般に $1\sim 200\text{mg}$ /回である。

本発明乳化剤に適応できるポリエン抗真菌抗生物質として、アムホテリシンBのほかに、アムホテリシンBメチルエステル、ナイスチン、トリコマイシン、ビマリシン等を挙げることができる。

[効果]

本発明によれば、ポリエン抗真菌抗生物質（特に、アムホテリシンB）の臨床上的利用価値を著しく高めることができる。本発明の効果は、従来の問題点を克服し、

- ①アムホテリシンBのもつ溶血毒性のみならず、真の改毒課題であった腎毒性についても著しく軽減したこと、
- ②病巣への薬物移行性を改善したこと、
- ③細管内皮系による取り込みを抑制したこと、

④包含する薬物の血中濃度の持続を可能としたこと、

⑤保存時の安定性を確保したこと、

⑥製造コストを低減させたこと、

等に発効することができる。これらの効果は、本発明により初めて成されたものである。

本発明乳化剤の構成成分は、従来から医療現場において医療用として用いられてきた医薬上許容される脂質を主とするため、極めて安全に使用することができることも特徴として挙げることができる。

(以下次頁)

〔実施例〕

以下に、例として、本発明に係るアムホテリシンB含有乳化剤の製造に関する実施例及び試験例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明がこれらのみに限定されるものではないことは明白である。

製造例 1

アムホテリシンB 3 mg及び精製卵黄レシチン0.5 gをクロロホルム/メタノール(1/1, v/v) 混液 100ml中で混合溶解した後、ロータリーエバポレーターで減圧下溶媒を完全に除去する。これに、等張リン酸緩衝液を8 ml加え、ホモジナイザーで攪拌し粗乳化液とする。等張リン酸緩衝液を加えて10mlに定容した後、氷冷下、超音波ホモジナイザー(ブランソン モデル185)で60分間乳化し極めて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 2

アムホテリシンB 3 gおよび精製卵黄レシチン

約60℃で加温混合し、これに、0.24Mグリセリン水溶液を 100ml加え、ホモミキサーで攪拌し粗乳化液とする。粗乳化液をマイクロフルイダイザーにより高圧乳化し、きわめて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 3

アムホテリシンB 1 mg及び精製卵黄レシチン0.5 gをクロロホルム/メタノール(1/1, v/v) 混液 100ml中で混合溶解した後、ロータリーエバポレーターで減圧下溶媒を完全に除去する。これに、0.24Mグリセリン水溶液 8 mlを加え、ホモジナイザーで攪拌し粗乳化液とする。そして、0.24Mグリセリン水溶液を加えて10mlに定容した後、超音波ホモジナイザー(ブランソン モデル185)で60分間乳化して極めて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 4

アムホテリシンB 3 mg及び精製卵黄レシチン0.4

15 gを約60℃で加温混合し、これに、等張リン酸緩衝液を 500ml加え、ホモミキサーで攪拌し粗乳化液とする。粗乳化液をマントナー・ガウリン型ホモジナイザーにより高圧乳化し、きわめて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 5

アムホテリシンB 30 mg及び精製卵黄レシチン0.5 gをクロロホルム/メタノール(1/1, v/v) 混液 100ml中で混合溶解した後、ロータリーエバポレーターで減圧下溶媒を完全に除去する。これに、0.24Mグリセリン水溶液 8 mlを加え、ホモジナイザーで攪拌し粗乳化液とする。そして、0.24Mグリセリン水溶液を加えて10mlに定容した後、氷冷下、超音波ホモジナイザー(ブランソン モデル185)で60分間乳化して極めて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 6

アムホテリシンB 2 g 精製卵黄レシチン30 gを

g、ジミリストイルホスファチジルグリセロール 0.1gをクロロホルム/メタノール(1/1, v/v) 混液 100ml中で混合溶解した後、ロータリーエバポレーターで減圧下溶媒を完全に除去する。これに、0.24Mグリセリン水溶液 8 mlを加え、ホモジナイザーで攪拌し粗乳化液とする。そして、0.24Mグリセリン水溶液を加えて10mlに定容した後、超音波ホモジナイザー(ブランソン モデル185)で60分間乳化して極めて微細なアムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。製造例 7

アムホテリシンB 3 mg及び水添加卵黄レシチン0.4g、コレステロール0.1gをクロロホルム/メタノール(1/1, v/v) 混液 100ml中で混合溶解した後、ロータリーエバポレーターで減圧下溶媒を完全に除去する。これに、9%ラクトース水溶液 8 mlを加え、ホモジナイザーで攪拌し粗乳化液とする。そして、9%ラクトース水溶液を加えて10mlに定容した後、超音波ホモジナイザー(ブランソン モデル185)で60分間乳化し極めて微細な

アムホテリシンBを含有する乳化剤を得た。このものを常法に従い凍結乾燥し乾燥製剤を得た。

製造例 8

製造例 1、5 および 6 で得られたアムホテリシンB含有乳化剤にアルブミン0.5gを加え、その後凍結乾燥処理を行い、乾燥製剤を得た。

本発明のアムホテリシンB含有乳化剤の特性評価試験結果を以下に記す。

各試験においては、市販のアムホテリシンB製剤、従来技術である各種のアムホテリシンB含有リボソーム製剤および従来技術である脂肪乳剤を比較のために用いた。各試料の詳細を以下に記す。

検体試料 1：製造例 1 で得られた本発明のアムホテリシンB含有乳化剤。

検体試料 2：製造例 3 で得られた本発明のアムホテリシンB含有乳化剤。

対照試料 1：市販の注射用アムホテリシンB製剤（商品名：ファンギゾン（登録商標）、日本スクイブ）

試験例 1：溶血性試験

精製ラット赤血球に対する溶血作用について検体試料 1 及び対照試料 1 について試験管内で試験した結果、対照試料 1 は、極めて低濃度（ $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上）のアムホテリシンB濃度で顕著な溶血性を示したが、検体試料は 100倍以上の濃度でもほとんど溶血性を示さなかった。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は従来知られるリボソーム製剤及び脂肪乳剤製剤と同様にアムホテリシンB自身の持つ溶血毒性を大幅に低減することが明らかとなった。

試験例 2：in vivo 急性毒性試験

実験動物として ddY 系雌性マウス（体重約 20g）を用い、各々の検体試料及び対照試料を尾静脈より静脈内投与し、その急性毒性を評価した。

投与 1 時間後の判定によると検体試料はいずれもきわめて低毒性であった。対照試料のうち、2 及び 3 は溶血性に起因する毒性の低下が認められた。しかし、対照試料 1、4 及び 5 については急性毒性の低減は認められなかった。

対照試料 2：参考文献 1 に従い調製した、ジミリストイルホスファチジルコリン：ジミリストイルホスファチジルグリセロール＝7：3 のモル比よりなるマルチラメラリポソームあるいは脂質複合体と呼ばれるものに分類されるアムホテリシンB含有製剤。

対照試料 3：文献 1 に従い調製した、ジミリストイルホスファチジルコリン：ジミリストイルホスファチジルグリセロール＝7：3 のモル比よりなり、超音波処理後に得られるスモールユニラメラリポソームと分類されるアムホテリシンB含有リポソーム製剤。

対照試料 4：文献 1 に従い調製した、精製卵黄レシチンよりなり、超音波処理後に得られるスモールユニラメラリポソームと分類されるアムホテリシンB含有リポソーム製剤。

対照試料 5：文献 2 に従い調製した、精製大豆油及び精製卵黄レシチンよりなるアムホテリシンB含有脂肪乳剤。

投与後 72 時間後の判定によると検体試料はいずれもきわめて低毒性であった。しかし、対照試料はいずれも毒性が発現し、検体試料に比べ腎毒性が著しいことが示された。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、従来知られているリボソーム製剤及び脂肪乳剤製剤と比較して、投与直後にみられる溶血毒性のみならず、特に腎毒性に起因すると考えられる投与後 72 時間で評価した場合の毒性低減効果が顕著であることが示された。

試験例 3：腎臓中薬物量（腎への移行性）

実験動物として SD 系雄性ラット（体重約 250g）を用い各々の検体試料及び対照試料を尾静脈より静脈内投与した。投与量はアムホテリシンBとして $1 \text{ mg}/\text{kg}$ とした。投与 18 時間後、腎臓を摘出し、ホモジナイズした後、腎臓中のアムホテリシンB濃度を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。その結果を、表 1 に示した。

検体試料を投与した場合の腎臓中アムホテリシンB濃度は、いずれも測定限界以下であったが、

対照試料を投与した場合は、いずれも高濃度のアムホテリシンBが検出された。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、従来知られているリポソーム製剤及び脂肪乳剤製剤に比べ、顕著な腎臓への薬物移行性の改善（移行性の低下）を達成することが示された。

表1：アムホテリシンBの腎移行量

	腎臓中濃度 ($\mu\text{g}/\text{g}$)
検体試料1	定量限界 (0.1) 以下
検体試料2	定量限界 (0.1) 以下
対照試料1	1.4 ± 0.1
対照試料2	1.3 ± 0.3
対照試料5	1.5 ± 0.4

(平均値±標準偏差、n=3)

試験例4：腎機能評価

表2：腎機能の血清生化学的評価

	BUN (mg/dl)
コントロール	14.7 ± 1.7
検体試料1	14.3 ± 1.9
検体試料2	15.0 ± 2.1
対照試料1	29.2 ± 2.6
対照試料2	29.9 ± 2.1
対照試料5	37.8 ± 5.4

(平均値±標準偏差、n=3)

検体試料を投与した場合のBUN濃度は、いずれもコントロールと差が認められず、腎機能に全く障害は認められなかった。しかし、対照試料を投与した場合は、いずれも顕著に高いBUN濃度を示し、腎機能の障害が認められた。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、従来知られているリポソーム製剤及び脂肪乳剤製

実験動物としてSD系雄性ラット（体重約250g）を用い各々の検体試料及び対照試料を尾静脈より静脈内投与した。投与量はアムホテリシンBとして $1\text{mg}/\text{kg}$ とし、24時間毎に計3回投与した。最終投与24時間後に頸静脈より採血し血清を得た。腎機能の指標として用いられる血清中尿素窒素量（BUN）を市販の測定キットを用いて測定した結果を表2に示した。なお、コントロールとして生理食塩水を同様に投与して得た血清を用いた。

(以下次頁)

剤に比べ、腎臓機能の障害性の顕著な改善を達成することが示された。

試験例5：血中濃度推移

実験動物としてSD系雄性ラット（体重約250g）を用い各々の検体試料及び対照試料を尾静脈より静脈内投与した。投与量はアムホテリシンBとして $1\text{mg}/\text{kg}$ とした。投与後、各時間において頸静脈より少量採血し血清を得た。血清中のアムホテリシンB濃度は高速液体クロマトグラフィー（文献：H. Hosotsubo, et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 32, 1103~1105

(1988) 記載の条件に準じた）にて測定した。その結果を図1に示した。

いずれの検体試料を投与した場合も、その血清中アムホテリシンB濃度推移は、いずれの対照試料よりも高いことが示された。一方、いずれの対照試料を投与した場合も、速やかに血清中濃度が低下した。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、従来知られているリポソーム製剤及び脂肪乳剤製

剤に比べ、アムホテリシンBの顕著な血中濃度の持続が達成されることが示された。

試験例 6 : 炎症部位への薬物移行性

真菌等に感染した部位は炎症反応を起こすことが知られているので、そのモデル系として、実験的炎症部位への薬物移行性について評価した。

実験動物としてSD系雄性ラット(体重約250g)を用い、胸腔内に2%メーカラゲニン 0.1mlを投与し、実験的胸膜炎を作製した。2.5時間後、各々の検体試料及び対照試料を尾静脈より静脈内投与した。投与量はアムホテリシンBとして1mg/kgとした。投与後、各時間において腹部大動脈より放血致死せしめ、胸腔内に漏出している浸出液を得た。浸出液中のアムホテリシンB濃度は高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

いずれの検体試料を投与した場合も、その浸出液中アムホテリシンB濃度推移は、いずれの対照試料よりも高いことが示された。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、従来知られているリポソーム製剤及び脂肪乳剤製

剤に比べ、顕著な炎症部位(感染部位)への集積性を有し、より有効で安全な薬物療法が達成されることが示された。

試験例 7 : 粒子径の測定

検体試料1及び検体試料2の乳剤粒子の粒子径について、レーザー光による動的光散乱粒子径測定装置を用いその粒子径について評価した。

その結果、粒子径は、5nm以上100nm未満であり、1μm以上の粒子を含まなかった。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、きわめて微細で、均一な乳剤粒子よりなり、静脈内に投与する際、毒性上問題となる1μm以上の粒子をも含まないので、有効で安全な薬物療法が達成されることが示された。

試験例 8 : in vitro抗真菌試験

サブロー培地にてカンジダ菌(C. Albicans)を培養し、各々の検体試料及び対照試料を培地に添加し、カンジダ菌の生育を阻止する最低アムホテリシンB濃度を求め、各試料の抗真菌活性を評価した。その結果を表3に示した。各種試料ともき

わめて微細のアムホテリシンB濃度で、抗真菌活性を示し、カンジダ菌の生育を抑制した。

即ち、本発明のアムホテリシンB含有乳化剤は、アムホテリシンB自身の持つ抗真菌活性に悪影響を全く与えず、有効で安全な薬物療法が達成されることが示された。

移を示している。横軸は各試料投与後の時間(時間)経過を、縦軸は血漿中アムホテリシンBの濃度(μg/ml)をそれぞれ表している。○印線は検体試料1の場合を、○印線は検体試料2の場合を、□印線は対照試料1の場合を、△印線は対照試料2の場合を、△印線は対照試料5の場合を、それぞれ示している。

表3 : 抗真菌活性 (in vitro)

	最低有効濃度 (μg/ml)
検体試料1	0.10 以下
検体試料2	0.18 以下
対照試料1	0.20 以下
対照試料3	0.14 以下

出願人 日本新薬株式会社

代理人 弁理士 片岡 宏 (他1名)

4. 図面の簡単な説明

図1は、各検体試料または各対照試料をラットに投与した後の血漿中アムホテリシンBの濃度推

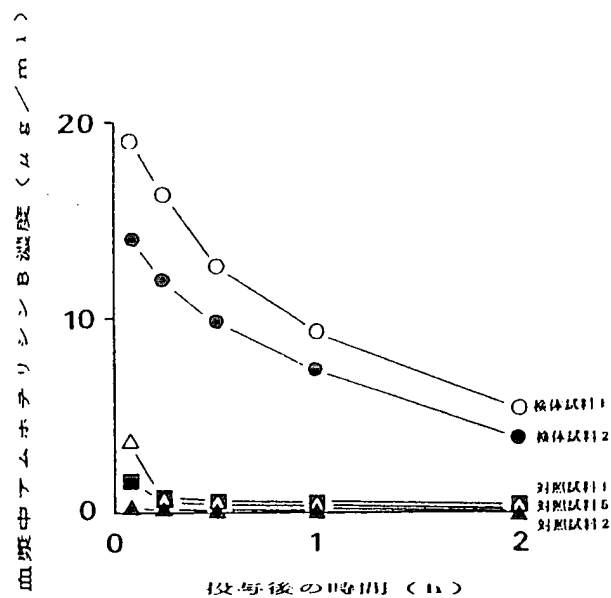


図 1 血漿中濃度推移